PRUEBA DE DONATH-LANDSTEINER

Autores Dr. Adalberto Ballester Santovenia
Dr. Jesús Diego de la Campa
Lic. Mayra Pérez Pérez
Téc. Beatriz Leyva de la Cruz

Servicio Banco de Sangre

OBJETIVO

- Establecer el diagnóstico de hemoglobinuria paroxística *a frígore* (HPF).

Alcance

- Se realiza en pacientes con prueba de Coombs directa positiva sólo a C3d y prueba de crioaglutininas negativa; hemoglobinemia demostrable, hemoglobinuria o ambas.

Responsabilidades

- Es responsabilidad de la Dirección del Banco garantizar los recursos indispensables para la realización de éste procedimiento.
- Es responsabilidad del Jefe de Departamento la implantación de este proceder
- Es responsabilidad de los técnicos que laboran en el Laboratorio cumplir lo establecido en el presente documento.
- Es responsabilidad de aseguramiento de la calidad chequear el cumplimiento de este procedimiento mediante controles y auditorías.

Condiciones de seguridad

- Use bata sanitaria y guantes de cirujano.

Equipamiento, locales, materiales y reactivos

- Centrífuga para tubos de mesa
- Neveras de conservación de sangre 4-6ºC
- Baño de María 37º con agua destilada

- Tubos de ensayo de13x100
- Gradillas para tubos de ensayo
- Jeringuillas de 10 o 20 mL
- Agujas 20 o 21
- Torundas
- Ligaduras
- Aplicadores de madera.
- Alcohol 70 % o hibitane alcohólico
- Hielo
- Beaker de 250 mL

Operaciones preliminares

- Tome dos muestras de sangre al paciente en dos tubos sin anti coagulante.
- Coloque las muestras a 37ºC en Baño de María por 10 minutos.
- Centrifugue la muestra 10 min a 3000 rpm y separe el suero.
- Mantenga hielo disponible para colocar en él las muestras que así lo requieran.
- Prepare una suspensión 5 % de eritrocitos lavados de grupo O.

Procedimiento

- Prepare cuatro tubos rotulados con los números 1, 2, 3 y 4 en cada tubo añada dos gotas de suero del paciente y dos gotas de la suspensión de eritrocitos cero.; al tubo número 4 añada además dos de suero normal fresco como fuente de complemento.
- Temperatura de incubación:
  - Tubo 1 incubar en hielo (0ºC) durante 90 minutos.
  - Tubo 2 incubar a 37ºC durante 90 minutos.
  - Tubo 3 manténgalo en hielo a 0ºC durante 30 minutos e incúbelo a continuación a 37ºC durante 60 minutos.
  - Tubo 4 manténgalo en hielo a 0ºC durante 30 minutos e incúbelo a continuación a 37ºC durante 60 minutos.

- Concluido el tiempo de incubación, centrifugue los cuatro tubos 10 minutos a 3 000 rpm y observe el aspecto del sobrenadante en busca de signos de hemólisis.

Interpretación de los resultados

- La prueba de Donath-Landsteiner se considera positiva cuando el suero del paciente con complemento agregado o sin él (tubos 3 y 4) produce hemólisis en los tubos incubados primero en hielo y luego a 37ºC y no aparece hemólisis en los tubos mantenidos constantemente a 0ºC o 37ºC (tubos 1 y 2)

Observaciones

- La naturaleza bifásica de la hemolisina asociada con la hemoglobinuria paroxística nocturna exige incubar el suero con células primero a una temperatura fría y luego a 37ºC

- Como los pacientes con hemoglobinuria paroxística nocturna pueden tener baja complementemia se debe incluir suero normal fresco como fuente de complemento.

- Para evitar la auto adsorción por el frío antes de la prueba, se debe dejar coagular la sangre del paciente a 37ºC.

Controles

- Mientras realiza la prueba verifique que se mantenga la temperatura de 0ºC en el baño de hielo.

- Mientras realiza la prueba verifique que se mantenga la temperatura del Baño de María estable a 37ºC.

Bibliografía

1. Manual Técnico 12º Edición 1997. American Association Blood Banks.